

THESIS

MUNICH

1966

EXPERIMENTELLE UND MEDIKAMENTÖSE BEEINFLUSSUNG
DER ALKALISCHEN LEUKOZYTENPHOSPHATASE

Gertraud Sicklinger

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

AUS DER II. MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. Dr. G. BODECHTEL

EXPERIMENTELLE UND MEDIKAMENTÖSE BEEINFLUSSUNG
DER ALKALISCHEN LEUKOZYTENPHOSPHATASE

Inaugural - Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin verfaßt
und einer hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig - Maximilians - Universität zu München

vorgelegt
von

GERTRAUD SICKLINGER

1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Priv.-Doz.Dr.H.BORCHERS
Mitberichterstatter:	Prof.Dr.Dr.G.BODECHTEL
Dekan:	Prof.Dr.M.KIESE

Tag der mündlichen Prüfung: 13.12.1966

Mein aufrichtiger Dank gilt Herrn Oberarzt
Doz. Dr. med. H. Borchers für die freundli-
che Überlassung des Themas und für seine
Hilfsbereitschaft. Besonders habe ich Herrn
Dr. med. P. C. Scriba zu danken für seine
unermüdlichen Ratschläge und wertvollen
Anregungen.

Meiner Mutter in Dankbarkeit gewidmet



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154017_0161

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
LITERATURVERZEICHNIS.....	4
EINLEITUNG.....	8
METHODEN und PRÄPARATE.....	10
ERGEBNISSE.....	13
1. Einfluß des Alters der Blutaussstriche auf die Aktivität der ALP.....	13
2. Einfluß des pH-Wertes auf die Aktivi- tät der ALP.....	13
3. Einfluß der Inkubationszeit auf die Aktivität der ALP.....	15
4. Einfluß der Inkubationstemperatur auf die Aktivität der ALP.....	16
5. Einfluß von Prednisolon auf die Ak- tivität der ALP.....	18
6. Einfluß von Nandrolondecanoat auf die Aktivität der ALP.....	25
a) bei Kranken.....	25
b) bei gesunden Personen.....	33
c) bei Patienten mit einer chronisch myeloischen Leukämie.....	39
DISKUSSION.....	43
ZUSAMMENFASSUNG.....	49
LEBENS LAUF.....	50

LITERATURVERZEICHNIS

1. SCHUHMACHER, K. : Die Bedeutung der alkalischen Leukozytenphosphatase für Differentialdiagnose und Prognose maligner Hämoblastosen, Med. Welt 2, (1964), 415
2. IMMEL, E. und TILLING, W.: Die alkalische Leukozytenphosphatase in der Differentialdignose der Lebererkrankungen, Med. Klinik 59, (1964), 895
3. KAY, H.D.: Plasma phosphatases in osteitis deformans and in other diseases of bone, J. Exper. Path. 10, (1929), 253
4. UMENO, M.: Studien über Phosphatasen, V.Mitt.: Über die Glycerophosphatase der Leukozyten im Blut, Biochem. Z. 231, (1931), 339
5. WACHSTEIN, M.: Alkaline phosphatase activity in blood and bone marrow cells, J. Lab. Clin. Med. 31, (1946), 1
6. MERKER, H.: Grundlagen zur klinisch-morphologischen Blutdiagnostik mit Hydrolasen, in Zyto- und Histochemie in der Hämatologie. Neuntes Freiburger Symposion, Herausg. H. MERKER, Springer-Verlag, Berlin - Göttingen-Heidelberg 1963
7. MENTEN, M.L., JUNGE, J. and GREEN, M.H.: A Coupling histochemical Azo-dyetest for alkaline phosphatase in the kidney, J. Biol. Chem. 153, (1944), 472
8. KAPLOW, L.S. : A Histochemical Procedure for Localizing and Evaluating Leukozyte Alkaline Phosphatase Activity in Smears of Blood and Marrow, Blood 10, (1955), 1023
9. MERKER, H. und HEILMEYER, L. : Die Bedeutung der ALP bei Reaktionen und Erkrankungen des myeloischen Systems, Schweiz. Med. Wschr. 89, (1959), 1051

10. WENDT, F. und BUDDE, C.: Zur Bewertung der Aktivität der alkalischen Phosphatase neutrophiler Granulozyten im cytochemischen Verfahren, Med. Welt 10, (1964), 473
11. GÖSSNER, W.: Methoden zum Nachweis hydrolytischer Enzyme, in Zyto- und Histochemie in der Hämatologie. Neuntes Freiburger Symposion, Herausg. H. MERKER, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1963
12. LAMBERS, K. und BAUER-SIC, P.: Hydrolytische Enzyme in der klinischen Diagnostik, in Zyto- und Histochemie in der Hämatologie. Neuntes Freiburger Symposion, Herausg. H. MERKER, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1963
13. MERKER, H.: Die alkalische Leukozytenphosphatase - ihre hämatologische und allgemein klinische Bedeutung, Dtsch. Med. Wschr. 90, (1965), 484
14. Documenta GEIGY. Wiss. Tabellen, 6. Auflage, Herausg. J.R. GEIGY, A.G., Basel, 1960
15. WENDL, L.: Zur Problematik des Index der alkalischen Leukozytenphosphatase in der Differentialdiagnose der chronisch myeloischen Leukämie und der Osteomyelosklerose, Dissertation, Universität München, 1966
16. KING, M.J., GILLIS, E.M. and BAIKIE, A.G. : The Polymorph alkaline Phosphatase in Mongolism, The Lancet (1962), 1302
17. TEPLITZ, R.L., ROSEN, R.B. and TEPLITZ, M.R.: Granulocytic Leukemia, Philadelphia Chromosome and Leukozyte Alkaline Phosphatase, The Lancet (1964), 418
18. HAMMOUDA, F., QUAGLINO, D. and HAYKO, G.J.: Blastis Crisis in Chronic Granulocytic Leukaemia: Cytochemical, Cytogenetic and Autoradiographic Studies in four Cases, British Med. J. (1964), 5933
19. TRUBOWITZ, S., KIRMAN, D. and MASEK, B.: The leukocyte Alkaline Phosphatase in Mongolism, The Lancet (1962), 486

20. BERGMAYER, H.V.: Methoden zur enzymatischen Analyse, Verlag Chemie G.m.b.H., Weilheim, 1962
21. PERILLIE, P.E. und FINCK, C.: ALP-Aktivität der exsudativen Leukozyten bei akuter Leukämie, Blood 18, (1961), 572
22. LOHMANN, D. und WEISSEL, M.: Die Abhängigkeit der alkalischen Leukozytenphosphatase von Plasmafaktoren, Klin. Wschr. 42, (1964), 245
23. VALENTINE, W.M., FOLLETTE, J.H., SOLOMON, D.H. and REYNOLDS, J.: The relationship of leucocyte alkaline phosphatase to stress to ACTH and to adrenal 17 - OH - corticosteroids, J. Lab. Clin. Med. 49, (1957), 723
24. KEISER, G. und ALSLEBEN, U.: Alkalische Leukozytenphosphatase und Blutkrankheiten. (Differentialdiagnostische und prognostische Bedeutung) Schweiz. Med. Wschr. 93, (1963), 1
25. PLENERT, W.: Die Beeinflussung der ALP (Granulozytenphosphatase) durch Steroidpräparate, Folia Hämatologica (Leipzig) 8, (1963), 52
26. BLUM, K.U.: Enzymbestimmungen bei hämatologischen Erkrankungen, Der Internist 3, (1962), 112
27. KRÜSKEMPER, H.L.: Anabole Steroide, G. Thieme, Stuttgart, 1963
28. TANAKA, K., VALENTINE, W.M. and FREDERICKS, R.E.: Diseases or clinical conditions associated with low leucocyte alkaline phosphatase, New England J. Med. 262, (1960), 912
29. LAMBERS, K.: Die alkalische Phosphataseaktivität der Blutzellen bei Leukosen und anderen pathologischen Zuständen, Z. f. Klin. Med. 155, (1958), 176
30. FISCHER, R., LOHRBACHER, P. und SCHUHMACHER, K.: Über den terminalen Anstieg der alkalischen Leukozytenphosphatase bei chronischer Myelose, Klin. Wschr. 41, (1963), 669

31. REMY, D. und MENDE, H.: Über Eigenschaften leukämischer Blutzellen, Ärztl. Forschung 11, (1957), 330
32. XEFTERIS, E., MITUS, W.J., MEDNICOFF, J.B. and DANIESBEK, W.: Leucocytic Alkaline Phosphatase in Busulfan Induced Remissions of Chronic Granulocytic Leukemia, Blood 18, (1961), 202
33. KITAY, J. I.: Relation of Testosterone to Adrenal Steroidogenesis in Male Rats, Feder. Proc. 22, (1963), 165

E I N L E I T U N G

Die alkalische Leukozytenphosphatase (ALP) ist ein Enzym, über dessen biologische Bedeutung durchaus noch Unklarheit herrscht. Es wurde vermutet, daß die ALP für die Funktion der Granulozyten von Bedeutung sei, da bei allen typischen Abwehrleistungen der Granulozyten die Aktivität der ALP ansteigt (1). Ihrem chemischen Mechanismus nach gehört die ALP zu den Hydrolasen und wird den Esterasen zugeordnet. Sie ist eine unspezifische Phosphomonoesterase, die das Phosphat aus alkoholischen und phenolischen Monoestern freisetzt (2).

Daß ALP-Aktivität in den weißen Blutkörperchen überhaupt vorhanden ist, wurde zuerst von K A Y (3) vermutet. 1931 hat dann U M E N O (4) in den weißen Blutkörperchen des Kaninchens und auch in den Zellen eines Menschen mit einer chronisch myeloischen Leukämie alkalische Phosphatase nachgewiesen, nicht aber in den Erythrozyten. 1946 berichtete W A C H S T E I N (5) über das Vorkommen der alkalischen Phosphatase in den Zellen des Blutes und des Knochenmarkes. S C H U H M A C H E R (1) fand unter den Zellen des Knochenmarks die Zahl der Phosphatase-positiven Zellen aber erheblich geringer als im peripheren Blut. Man wies die alkalische Phosphatase auch in Reticulumzellen und in Gefäßendothelien nach und kann sie deshalb zu deren Identifizierung verwenden, ebenso zur Identifizierung von atypischen Granulozyten, da sogar Abbauförmen der neutrophilen Granulozyten, auch solche ohne Kernsubstanz, ALP-Aktivität besitzen (6).

Zum Nachweis kann man sich entweder biochemischer oder histochemischer Methoden bedienen. Beim histochemischen Nachweis nutzt man die hydrolytische Funktion aus, indem man die ALP auf ein geeignetes Substrat einwirken läßt (2). Die erste histochemische Nachweisreaktion führte 1946 W A C H S T E I N (5) durch. Gebräuchliche histochemische Nachweisverfahren sind die Metallsalzmethode, Indigomethode und Azofarbstoffmethode. Wir verwendeten das Azokupplungsverfahren, mit dem 1954 M E N T E N , J U N G E und G R E E N (7) ALP im Nierengewebe nachwiesen, das von K A P L O W (8) 1955 in die Hämatologie eingeführt und 1958 von H E I L M E Y E R und M E R K E R (9) modifiziert wurde. Es beruht auf folgendem Prinzip: Von einem synthetischen Substrat, einem Salz des Naphthylphosphates wird Phosphat enzymatisch abgespalten und Naphthol freigesetzt. Dieses Naphthol bildet dann mit einem Diazoniumsalz einen Azofarbstoff. Diese beiden miteinander gekoppelten Vorgänge, nämlich die Substratspaltung durch die Enzymreaktion und die Kupplungsreaktion zum Farbstoff spielen sich simultan am Ort der Enzymreaktion ab (10,11). Diese Methode findet heute wegen ihrer einfachen technischen Durchführung in der Hämatologie weitgehend Verwendung.

Die ALP ist ein sehr reagibles Ferment, das leicht beeinflussbar ist und keine konstante Größe der Zelle darstellt (12). Als Aktivatoren wirken in vitro Kationen wie Mg^{++} , Zn^{++} , Mn^{++} , und Co^{++} . Inhibitoren sind Äthylendiamidtetraessigsäure, Metallsalze wie Beryllium und Zinkchlorid, ebenso oxydierende Agentien (13).

Die vorliegende Arbeit berichtet über die in vitro-Beeinflussbarkeit der ALP durch Änderung des pH, der Inkubationstemperatur und -Zeit und des Alters der untersuchten Ausstriche. Es wird ferner der Einfluß der Behandlung von Patienten mit Corticosteroiden (Prednisolon) und anabolen Steroiden (Nandrolondecanoat) auf die Höhe des ALP-Index beschrieben.

METHODEN UND PRÄPARATE

Es wurden nach der üblichen Technik Blutausstriche angefertigt, bei Zimmertemperatur luftgetrocknet, und wenn nicht anders angegeben, nach vierundzwanzig Stunden wie folgt behandelt:

Fixation:

Zur Fixation wurde ein Gemisch aus Methanol und 35 %igem Formalin im Verhältnis 9 : 1 hergestellt und auf 4°C abgekühlt. Die Ausstriche wurden damit genau 30 Sekunden fixiert. Darauf folgte gründliches Abspülen der Präparate mit fließendem Leitungswasser und Lufttrocknen der so fixierten Präparate.

Inkubation:

Herstellung einer Lösung von Natrium-alpha-naphthylphosphat (naphtholfrei, Schuchardt) und Variaminblausalz B conc. (CHROMA) in 2 %igem Veronal - HCl - Puffer pH 9,4 in folgenden Mengenverhältnissen: 50mg Natrium-alpha-naphthylphosphat wurden in 50 ml 2 %igem Veronal-HCl-Puffer pH 9,4 gelöst. 100 mg Variaminblausalz B conc. wurden in 50 ml 2 %igem Veronal - HCl - Puffer pH 9,4 gelöst, 10 Minuten lang geschüttelt und anschließend durch Selecta Faltenfilter SS Nr. 588 filtriert.

Dann erfolgte Vereinigung der beiden Lösungen. Herstellung von Veronal - HCl - Puffer: 20 gr Barbital-Natrium (Natriumsalz der 5,5 Diäthylbarbitursäure, Fa. Merck) wurden in ca. 970 ml aqua dest. gelöst (pH 10,04) und wenn nicht anders angegeben mit 0,1n HCl bis zum pH von 9,4 titriert. Dann wurde mit aqua dest. ad 1000ml aufgefüllt. Von der Pufferlösung stellten wir jeweils einen Liter her und hoben sie bei 4°C auf. Substratlösungen wurden dagegen für jede Inkubation frisch bereitet. Die Blutausstriche wurden nach der Fixation, wenn

nicht anders angegeben, bei etwa 4°C im Kühlschrank für 60 Minuten inkubiert. Darauf folgte erneut gründliches Abspülen der Präparate mit fließendem Leitungswasser und anschließendes Lufttrocknen der Präparate.

F ä r b u n g :

Daran schloß sich eine Kernfärbung mit MAYERS Hämalaun (13 Minuten) auf der Färbekbank und anschließend gründliches Abspülen mit fließendem Leitungswasser und Lufttrocknen der Präparate an.

M i k r o s k o p i e :

Die Bewertung der Ausstriche erfolgte nach einer semi-quantitativen Methode, die sich auf die Annahme stützt, daß eine hohe Farbstoffintensität einer hohen Enzymaktivität gleichkommt, und daß eine geringe Anfärbung der Zellen eine niedrige Enzymaktivität bedeutet (10). Hier wurde die von K A P L O W (8) 1955 in die Hämatologie eingeführte "scoring technique" in der Modifikation von M E R K E R und H E I L M E Y E R (9) benutzt. Dazu unterteilten wir die Intensität des gebildeten Farbstoffes wie üblich in die Stufen 0 - 5.

S t u f e n e i n t e i l u n g :

- Stufe 0: Der Leukozyt läßt keinerlei Reaktion erkennen.
- Stufe 1: Meist im Zellzentrum, in Kernnähe gelegener fein granulärer, bräunlicher Niederschlag.
- Stufe 2: Der granuläre, bräunliche Niederschlag breitet sich zur Peripherie hin aus.
- Stufe 3: Das ganze Plasma der Zelle ist braun angefärbt. Zelltransparenzist gut erhalten, das heißt, die Kerne sind klar erkennbar.
- Stufe 4: Der Niederschlag ist an einigen Stellen zu tief schwarzen Flecken verdichtet. Der Zellkern ist noch erkennbar.
- Stufe 5: Die ganze Zelle erscheint als schwarzer Klumpen. Der Zellkern ist nicht mehr erkennbar.

B e r e c h n u n g d e s I n d e x d e r A L P :

Die Summe der Produkte von der Anzahl (%) der Zellen einer Aktivitätsstufe multipliziert mit der Ordnungszahl der Aktivitätsstufe ist der Index der ALP.

Beispiel:

Stufe 0:	70 Zellen	$70 \times 0 = 0$
Stufe 1:	20 Zellen	$20 \times 1 = 20$
Stufe 2:	10 Zellen	$10 \times 2 = 20$
Summe		40 = Index der ALP

Nur die neutrophilen segmentkernigen und bei erhöhter Aktivität auch die stabkernigen Leukozyten zeigen eine Phosphataseaktivität. Letztere wurden bei der Auszählung bis zu 10 % mit berücksichtigt. Bei 33 hämatologisch gesunden Personen, die auch keine die ALP-Aktivität erhöhende Grundkrankheit hatten, fanden wir einen Mittelwert von 29,4 für die ALP-Indices. Der Normalbereich ($\bar{x} + / - k_3 \sigma$ nach 14) lag zwischen 0 und 63. Die Extremwerte lagen zwischen 3 und 85.

P r ä p a r a t e :

Prednisolon: Scherisolon der Fa. Schering AG, Berlin

Nandrolondecanoat: Deca-Durabolin der Fa. Organon
G.m.b.H., München

ER G E B N I S S E

1. Der Einfluß des Alters der Blutausrichhe auf die Aktivität der ALP.

In zwei Versuchsreihen wurden von zwei mal vier Patienten von jedem Patienten acht Blutausrichhe angefertigt. Es erfolgten Aktivitätsbestimmungen der ALP nach der oben beschriebenen Methode nach einer, acht und vierundzwanzig Stunden, und nach zwei bis siebzehn Tagen vom Zeitpunkt der Blutentnahme an gerechnet. Es zeigte sich, besonders deutlich für hohe ALP-Aktivitäten, daß der ALP-Index bis zum Zeitpunkt von vierundzwanzig Stunden nach der Blutentnahme noch anstieg und etwa vom fünften Tag an wieder absank (Abb.1).

2. Der Einfluß des pH-Wertes der Inkubationslösung auf die ALP-Aktivität

Von drei Patienten wurden je fünf Blutausrichhe angefertigt, vierundzwanzig Stunden bei Zimmertemperatur aufgehoben und in Veronal-HCl-Lösungen mit verschiedenen pH-Werten inkubiert. Es wurden 2 %ige Veronal-HCl-Puffer mit einem pH von 8,6; 9,0; 9,4 und 9,8, wie unter Methoden beschrieben, hergestellt. Zwei prozentige Puffer mit einem pH unter 8,4 waren nicht herzustellen, da sich ein Konzentrationsniederschlag bildete. Es zeigte sich, daß die ALP ein recht genau definiertes pH-Optimum besitzt. Die maximale Aktivität war im pH-Bereich zwischen 9,4 und 9,8 nachzuweisen (Abb.2).

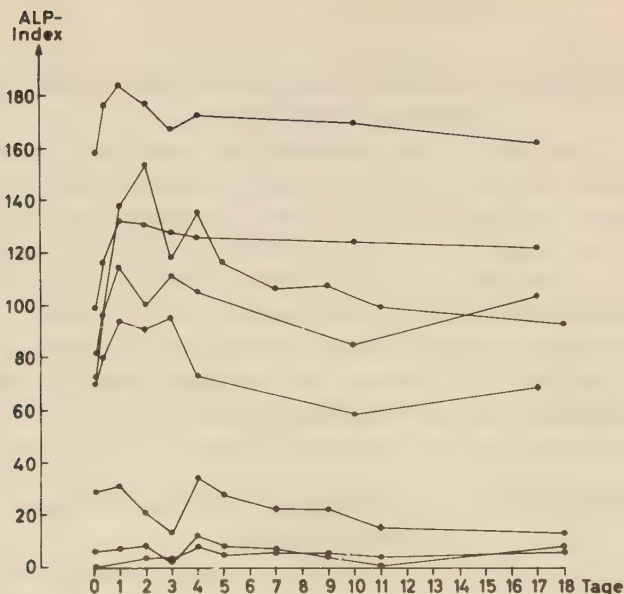


Abb.(1) Beeinflussung der Aktivität der ALP durch das Alter der Blutaussstriche. Die Bestimmung des ALP-Index erfolgte wie unter Methoden beschrieben. Die zum Zeitpunkt Null entnommenen Blutaussstriche wurden zu der auf der Abszisse angegebenen Zeit inkubiert, nachdem sie bei Zimmertemperatur aufgehoben worden waren. Die Ordinate gibt den ALP-Index an. Untersucht wurden die Patienten, in der Abbildung von unten nach oben angegeben:

- K. R., m, 24 J, rheumatische Aorteninsuffizienz,
- A. X., m, 36 J, chronische Pyelonephritis,
- B. D., m, 64 J, Asthma bronchiale und Herzinsuffizienz,
- E. E., m, 51 J, Lymphogranulomatose,
- S. T., w, 69 J, M. BOECK,
- H. H., m, 17 J, chronisch myeloische Leukämie,
- P. J., m, 28 J, Paramyeloblastenleukämie und
- H. H., m, 17 J, chronisch myeloische Leukämie.

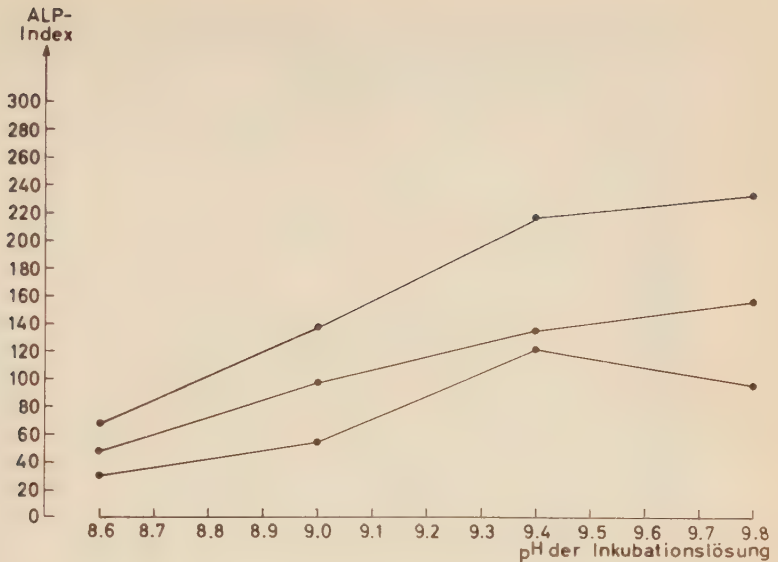


Abb. (2) Beeinflussung der Aktivität der ALP durch verschiedene pH-Werte des Inkubationspuffers: Die Bestimmung des ALP-Index erfolgte wie unter Methoden beschrieben. Auf der Abszisse ist der pH-Wert der für die Inkubation verwendeten Veronal-HCl-Puffer angegeben (vgl. Text). Die Ordinate gibt den ALP-Index wieder. Untersucht wurden, in der Abbildung von unten nach oben angegeben, die Patienten:

P. J., m, 28 J, Hämamyeloblastenleukämie,
S. T., w, 69 J, M. BOECK und
H. H., m, 17 J, chronisch myeloische Leukämie

3. Der Einfluß der Inkubationszeit auf die Aktivität der ALP.

Von drei Patienten wurden je fünf Blutausstriche hergestellt und, wie unter Methoden beschrieben, der ALP-Index bei verschieden langer Inkubationszeit ermittelt. Es wurde je ein Ausstrich zwanzig, vierzig, sechzig, neunzig und einhundertzwanzig Minuten lang im Kühlschrank bei etwa 4°C inkubiert. Bis zur Inkubationsdauer von einer Stunde stieg der ALP-Index bei allen

Patienten an, längere Inkubationszeit ergab keine wesentlich höheren Indices (Abb.3).

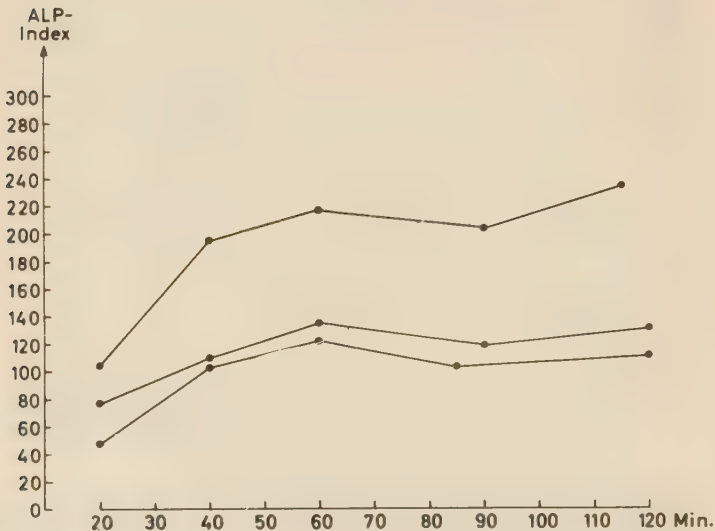


Abb. (3) Beeinflussung der Aktivität der ALP durch verschieden lange Inkubationszeiten: Die Bestimmung des ALP-Index erfolgte wie unter Methoden beschrieben. Die Abszisse zeigt die Dauer der Inkubation (vgl.Text). Die Ordinate gibt den ALP-Index an. Untersucht wurden, in der Abbildung von unten nach oben angegeben, die Patienten:

P. J., m, 28 J, Paramyeloblastenleukämie,
S. T., w, 69 J, M. BOECK und
H. H., m, 17 J, chronisch myeloische Leukämie.

4. Der Einfluß der Inkubationstemperatur auf die Aktivität der ALP

Von drei Patienten wurden je drei Blutaussstriche angefertigt und der ALP-Index, wie unter Methoden beschrieben, nur bei verschiedener Inkubationstemperatur,

ermittelt. Es wurde je ein Blutausstrich bei 4°C (Kühlschrank), 22°C (Zimmertemperatur) und 37°C (Brutschrank) inkubiert. Die Temperaturabhängigkeit der ALP ist aus Abb.4 ersichtlich.

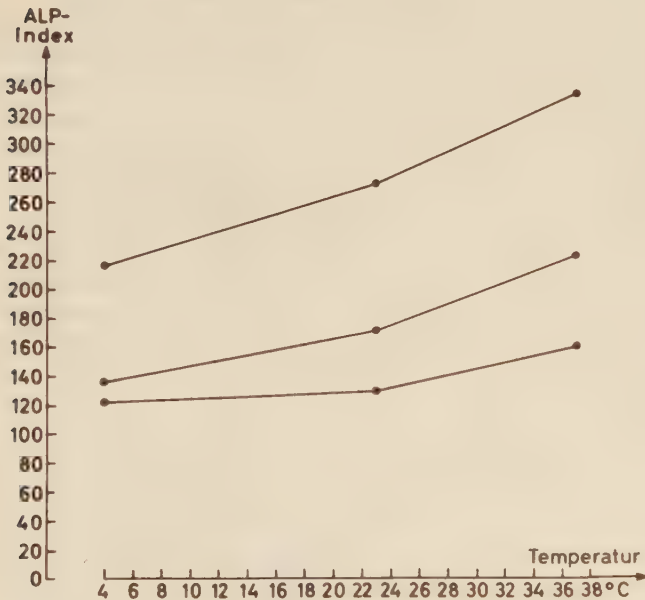


Abb. (4) Beeinflussung der Aktivität der ALP durch die Temperatur bei der Inkubation: Die Bestimmung des ALP-Index erfolgte wie unter Methoden beschrieben. Die Abszisse zeigt die jeweilige Temperatur an, bei der die Inkubation stattfand (vgl. Text). Untersucht wurden, in der Abbildung von unten nach oben angegeben, die Patienten:

P. J., m, 28 J, Paramyeloblastenleukämie,

S. T., w, 69 J, M. BOECK und

H. H., m, 17 J, chronisch myeloische Leukämie.

5. Der Einfluß von Prednisolon auf die Aktivität der ALP.

Bei vierzehn Patienten wurde vor und während einer Behandlung mit Prednisolon (Δ - 1,4 - pregn- dien- (11 β , 17 α , 21)-triol- (3,20)-dion), einem synthetischen Analogon zu den natürlichen Corticosteroiden der Nebennierenrinde, das Verhalten der ALP-Aktivität untersucht. Es handelte sich um zwei Patienten mit einem erhöhten ALP-Index, zwei mit einem Index unter zehn und zehn Patienten mit einem ALP-Index zwischen zwanzig und siebenzig. Von diesen Patienten wurden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen der ALP-Index, wie unter Methoden beschrieben, bestimmt und der Mittelwert jeweils als Ausgangswert eingesetzt. Dann erhielten die Patienten zehn Tage lang täglich 30 mg Prednisolon per os gleichmäßig über den Tag verteilt. Bei jedem Patienten wurde darauf der ALP-Index am ersten, dritten, fünften, siebten und vierzehnten Tag nach Beginn der Behandlung wieder bestimmt.

Diese Prednisolonbehandlungen erfolgten zu ganz verschiedenen Terminen und keineswegs synchron, so daß methodisch bedingte Schwankungen des ALP-Index keine Rolle für das Ergebnis spielen können. Das Verhalten der Aktivität der ALP bei den einzelnen Patienten ist aus Tab.1 und Abb.5 ersichtlich. Noch deutlicher zeigt sich das Verhalten der ALP in Abb.6, wo die ALP-Indices in Prozent vom Ausgangswert ausgedrückt sind. Dabei wurde der Ausgangswert jeweils mit 100 % eingesetzt. Ferner wurden für die tatsächlich gefundenen Indices und für die ALP-Indices, ausgedrückt in Prozent vom Ausgangswert, die Mittelwerte eines jeden Tages plus/minus der einfachen Standardabweichungen errechnet (14)Abb.(7,8).

Tab. (1) Einfluß von Prednisolon auf die Aktivität der ALP: Bei den in der Tabelle angeführten männlichen Kranken wurde an zwei aufeinanderfolgenden Tagen der ALP-Index, wie unter Methoden beschrieben, bestimmt und der Mittelwert als Ausgangswert eingesetzt. Dann erhielten die Patienten zehn Tage lang täglich 30 mg Prednisolon per os. Es wurde jeweils am ersten, dritten, fünften, siebten und vierzehnten Tag nach Beginn der Behandlung der ALP-Index bestimmt.

Patient	Alter	Diagnose	ALP-Index					
			vorher	1.	3.	5.	7.	14.Tg. nach- her
M. A.	27 J	Zustand nach Operation eines Halsmark-Tumors	20	26	9			
S. F.	58 J	L5/S1-Syn - drom	22	47	28		9	
H. E.	29 J	cerebrales Anfallsleiden	42	52	66		19	40
B. W.	17 J	Lymphogranulomatose	44	52	35		44	22
M. J.	52 J	L ₅ -Syndrom	70	92	93		106	26
K. Th.	53 J	Zustand nach 2/3 Resektion des Magens	59	76	58			
E. J.	39 J	Encephalomyelitis disseminata	24	30	37			
Q. N.	33 J	Abklingende Hepatitis	22	16	31		15	11
D. A.	53 J	M.BECHTEREW	42	35	20	26	18	18
H. G.	22 J	M.BOECK	6	7	42	21	10	7
L. H.	31 J	Postkontusionelle Kopfschmerzen, Pneumocephalogramm	156	180	128	80	30	
H. M.	61 J	Bronchialkarzinom	150	136	136	61	21	20
D. H.	53 J	M.WERLHOF	0	3	4	0	1	6
F. R.	16 J	normocalcämische Hyperventilationstetanie	21	48	51	52	36	

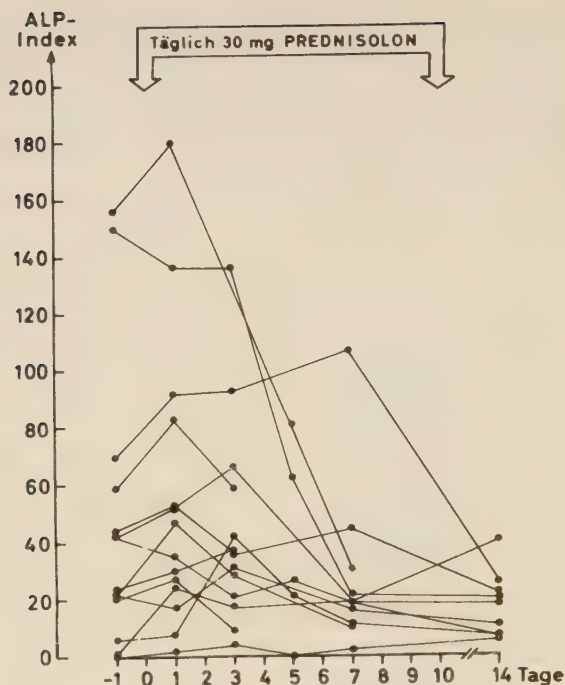


Abb.(5) Beeinflussung der Aktivität der ALP durch Prednisolon. Die Bestimmung des ALP-Index erfolgte wie unter Methoden beschrieben. Die Abbildung zeigt das Verhalten der Aktivität der ALP vor und während einer Therapie mit Prednisolon. Die Abszisse zeigt an, zu welchen Zeitpunkten nach Beginn der Behandlung mit Prednisolon der ALP-Index jeweils bestimmt wurde. Der Nullpunkt auf der Abszisse entspricht dem Beginn der Behandlung. Auf der Ordinate sind die tatsächlichen ALP-Indices angegeben (vgl.Tab.1).

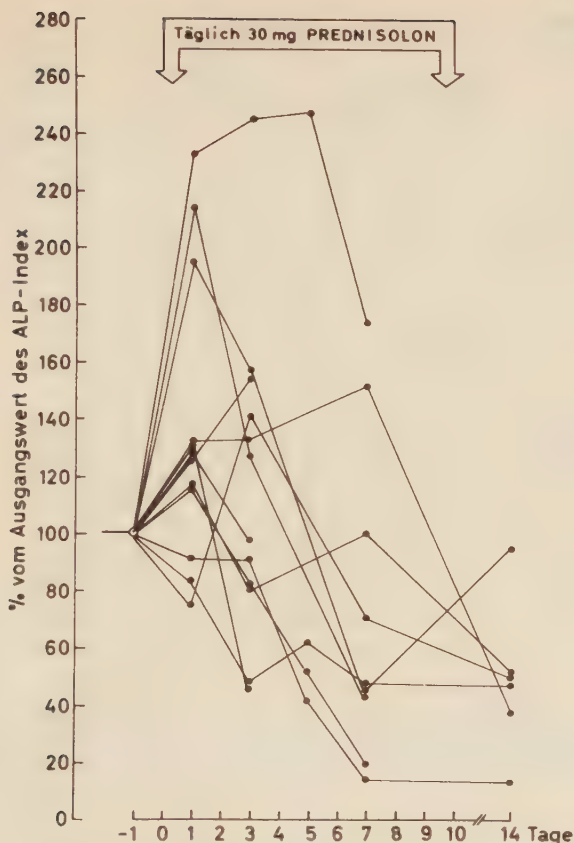
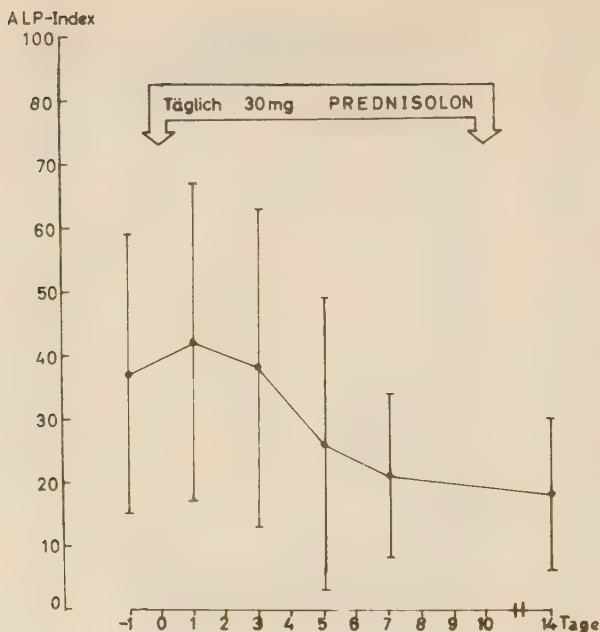


Abb. (6) Einfluß von Prednisolon auf die Aktivität der ALP. Die Bestimmung des ALP-Index erfolgte wie unter Methoden beschrieben. Die Abbildung zeigt das Verhalten der ALP-Aktivität (Einzelpersonen) vor und während einer zehntägigen Therapie mit Prednisolon. Der ALP-Index wurde zu dem auf der Abszisse angegebenen Zeitpunkt vor und nach Beginn der Behandlung ermittelt. Der Nullpunkt entspricht dem Behandlungsbeginn. Der ALP-Index ist in % vom Ausgangswert angegeben. Der jeweilige Ausgangswert (-1) wurde mit 100% eingesetzt. Der Ausgangswert wurde aus den ALP-Indices von zwei aufeinanderfolgenden Tagen vor Beginn der Behandlung errechnet.



alp. (7) Beeinflussung der Aktivität der ALP durch Prednisolon. Die Bestimmung des ALP-Index erfolgte wie unter Methoden beschrieben. Der ALP-Index wurde zu den auf der Abszisse angegebenen Zeitpunkten nach Beginn der zehntägigen Behandlung mit Prednisolon ermittelt. Der Nullpunkt entspricht dem Beginn der Behandlung. Es sind die Mittelwerte der ALP-Indices aller Patienten plus/minus der einfachen Standardabweichungen (σ) angegeben. Der Ausgangswert (-1) wurde aus den ALP-Indexbestimmungen von zwei aufeinanderfolgenden Tagen vor Beginn der Behandlung errechnet.

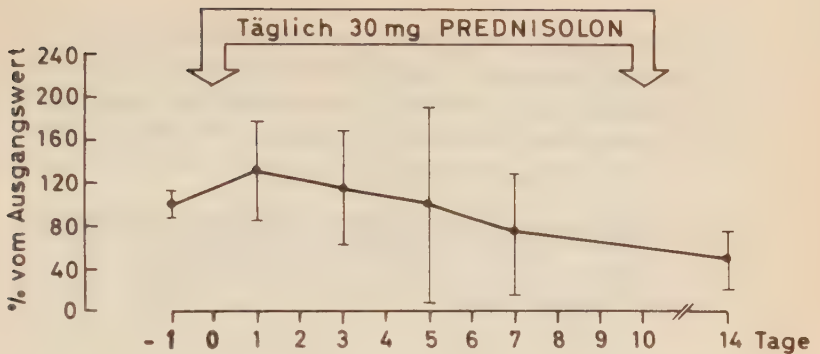


Abb. (8) Einfluß von Prednisolon auf die Aktivität der ALP. Die Bestimmung des ALP-Index erfolgte wie unter Methoden beschrieben. Die Abbildung zeigt das Verhalten der ALP-Aktivität vor und während einer zehntägigen oralen Prednisolontherapie. Es sind die Mittelwerte der ALP-Indices, ausgedrückt in % vom Ausgangswert, plus/minus der einfachen Standardabweichungen (σ) aufgetragen. Der Ausgangswert wurde mit 100% eingesetzt. Auf der Abszisse ist der jeweilige Zeitpunkt der Aktivitätsbestimmung der ALP vor und nach Beginn der Behandlung mit Prednisolon angegeben. Der Nullpunkt entspricht dem Beginn der Behandlung. Die Signifikanz der Differenz der Mittelwerte der ALP-Indices, in % vom Ausgangswert, vom ersten Tag ($p < 0,0025$) nach Beginn der Behandlung mit Prednisolon gegenüber dem Ausgangswert wurde mit dem t-Test (14) berechnet.

Es zeigte sich bei fast allen Patienten ein Anstieg der ALP vierundzwanzig Stunden nach Beginn der Behandlung (Abb.5, Tab.1) mit Prednisolon. Die Differenz der Mittelwerte der ALP-Indices, ausgedrückt in % vom Ausgangswert, vor und vierundzwanzig Stunden nach 30 mg Prednisolon pro die ist signifikant ($p < 0,0025$). Ebenso fand sich eine Signifikanz ($p < 0,005$) der mittleren Differenz der ALP-Indices vor und vierundzwanzig Stunden nach 30 mg Prednisolon pro die. Die Berechnung des Mittels der Differenzen der einzelnen ALP-Indices eliminiert dabei die unterschiedliche Höhe der Ausgangswerte. Dann sanken die Indices der ALP im allgemeinen

bis zum vierzehnten Tag nach Beginn der Behandlung zum Teil sogar unter den Ausgangswert ab. Bei fünf der untersuchten Patienten wurde ein Blutbild (Tab.2) vor und innerhalb acht Tagen nach Beginn der Behandlung mit Prednisolon gemacht.

Tab.(2) Einfluß von Prednisolon auf das Blutbild. Bei den in der Tabelle angeführten fünf männlichen Patienten wurde vor und während der ersten acht Tage nach Beginn der Behandlung mit Prednisolon (s.Text) ein Blutbild nach konventioneller Technik angefertigt:

Name	Alter	Diagnose	B L U T B I L D	
			vorher	nachher
H.G.	22 J	M.BOECK	Hb 15,0, Ery 5,300 Mill, Leuko 3400, Stab 5, Seg 43, Eo 1, Mono 13, Lymph 38	Hb 13,5, Ery 4,8 Mill, Leuko 3900, Stab 4, Seg 60, Eo 1, Baso 2, Mono 10, Lymph 23
F.R.	16 J	normo- calc.Hy- perven- til.Te- tanie	Hb 15,9, Ery 4,02 Mill, Leuko 10500, Seg 76, Eo 1, Mono 7, Lymph 16	Hb 14,5, Ery 4,9 Mill, Leuko 8400, Seg 77, Eo 1, Baso 1, Mono 3, Lymph 18
H.E.	29 J	cerebr. Anfalls- leiden	Hb 16,5, Ery 5,2 Mill, Leuko 11800, Jgl 1, Seg 77, Eo 1, Mono 3, Lymph 18	Hb 17,2, Leuko 9800, Stab 4, Seg 61, Eo 3, Baso 1, Mono 9, Lymph 22
G.F.	58 J	L5/S1- Syndrom	Hb 15,6, Ery 4,7 Mill, Leuko 5600, Seg 70, Mono 5, Lymph 25	Hb 15,1, Ery 4,7 Mill, Leuko 5800
B.W.	17 J	Lympho- granulo- matose	Hb 13,4, Ery 3,6 Mill, Leuko 11800, Stab 5, Seg 83, Mono 6, Lymph 6	Hb 13,1, Ery 4,42 Mill, Leuko 22000, Stab 2, Seg 61, Mono 9, Lymph 28

In drei Fällen stiegen die Leukozytenwerte an, in zwei Fällen nahm die Zahl der Leukozyten ab. Es ließ sich keine Korrelation zwischen Höhe des ALP-Index und Leukozytenzahl, beziehungsweise der Zahl der segmentkernigen neutrophilen Granulozyten aufstellen.

6. Der Einfluß von Nandrolondecanoat auf die Aktivität der ALP.

Es wurde bei drei verschiedenen Personengruppen der Einfluß des anabolen Steroids Nandrolondecanoat (19-nor- Testosteron-17 β - decanoat) auf die Aktivität der ALP untersucht. Es handelte sich um eine Gruppe (A) von dreizehn Patienten, davon elf ohne hämatologische Erkrankung und zwei mit einer Lymphogranulomatose, deren ALP-Indices praktisch innerhalb des Normalbereiches lagen. Zweitens um eine Gruppe (B) von zehn jungen, gesunden Männern im Alter von vierundzwanzig bis vierunddreißig Jahren und drittens um eine Gruppe (C) von acht Personen mit einer chronisch myeloischen Leukämie.

a) Kranke:

Bei dreizehn Patienten der Gruppe (A) wurde an zwei aufeinanderfolgenden Tagen, wie unter Methoden beschrieben, der ALP-Index bestimmt und jeweils der Mittelwert dieser Bestimmungen als Ausgangswert genommen. Die Ausgangswerte bei den einzelnen Patienten lagen zwischen 6 und 85. Die Kranken erhielten dann je einmal 50 mg Nandrolondecanoat i.m. Zwei Patienten (H.A., m, 27 J, Lymphogranulomatose und H.K., m, 59 J, Encephalomyelitis disseminata) standen bereits längere Zeit unter Prednisolontherapie. Die ALP-Indices wurden darauf wieder am ersten, dritten, fünften, siebten und vierzehnten Tag nach der Injektion von Nandrolondecanoat bestimmt. Das Verhalten der Indices bei den einzelnen Patienten ist aus Tab. (3) und Abb. (9) ersichtlich. In einer weiteren Abbildung (10) ist für alle Patienten

das Verhalten der ALP-Aktivität, ausgedrückt in % vom Ausgangswert, dargestellt. Die Abbildungen (11) und (12) zeigen die Mittelwerte plus/minus der einfachen Standardabweichungen (s) der tatsächlich gefundenen ALP-Indices und der ALP-Indices, ausgedrückt in % vom Ausgangswert, vor und nach Injektion von 50 mg Nandrolondecanoat.

Es konnte bei allen Patienten eine Erhöhung des ALP-Index als Folge der Verabreichung des anabolen Steroids beobachtet werden. Der Zeitpunkt der größten individuellen Aktivitätssteigerung lag jedoch von Patient zu Patient verschieden. Die Differenzen der Mittelwerte der ALP-Indices, ausgedrückt in % vom Ausgangswert, vor und vom ersten bis zum siebten Tag nach Verabreichung von Nandrolondecanoat sind signifikant ($p < 0,005$). Die Differenzen der Mittelwerte der tatsächlich gefundenen ALP-Indices vor und am dritten und fünften Tage nach Injektion von 50 mg Nandrolondecanoat sind ebenfalls signifikant ($p < 0,005$ und $p < 0,0025$). Bei fünf der Patienten dieser Gruppe wurde vor und innerhalb von acht Tagen nach der Injektion von 50 mg Nandrolondecanoat ein Blutbild angefertigt (Tab.4).

Wir konnten kein einheitliches Verhalten der Leukozytenzahlen nachweisen, ebenso keine Korrelation zwischen der Höhe des ALP-Index und der Höhe der Leukozytenwerte bzw. der neutrophilen segmentkernigen Granulozytenzahlen finden.

Die Untersuchungen bei den einzelnen Patienten erfolgten nicht synchron, so daß methodisch bedingte Schwankungen ohne Einfluß auf das Ergebnis geblieben sein dürften.

Tab. (3) Einfluß von Nandrolondecanoat auf die Aktivität der ALP bei Kranken. Bei den in der Tabelle angeführten männlichen Patienten wurde an zwei aufeinanderfolgenden Tagen der ALP-Index, wie unter Methoden beschrieben, bestimmt. Der Mittelwert ist als Ausgangswert angegeben. Dann erhielten die Patienten jeweils einmal 50 mg Nandrolondecanoat i.m. Darauf wurde jeweils am ersten, dritten, fünften, siebten und vierzehnten Tag nach der Injektion von Nandrolondecanoat der ALP-Index wieder bestimmt.

Patient	Alter	Diagnose	ALP - Index					
			vorher	1.	3.	5.	7.	14.Tag nachher
H. A.	27 J	Lymphogranulomatose tgl. 20 mg Prednisolon	38 39		54		96	67
L. E.	30 J	Lymphogranulomatose	68 123		100		84	151
G. H.	33 J	Lebercirrhose	19 6		23		52	
H. K.	59 J	Encephalomyelitis disseminata tgl. 20 mg Prednisolon	41 34		49		31	63
Z. A.	37 J	Myatrophische Lateralsklerose	16 45		61 68		42	9
R. F.	22 J	alimentäre Adipositas	66 89		88 158		62	27
Z. A.	35 J	Astrozytom	38 87		49			
L. F.	45 J	Intermittierendes Ischämiesyndrom	62 61		68 86		55	41
B. G.	67 J	Ulcus duodeni Herzinfarkt	18 18		29 29		32	12
W. J.	45 J	Myatrophische Lateralsklerose	85 73		118 122		70	19
W. U.	31 J	Leberkarz. Porto-cavale Anastom.	33 41		53 52			
B. J.	63 J	cerebrale Krampfanf.	24 38		42 39		34	
R. F.	21 J	Ulcus duodeni	6 47		41 28		29	14

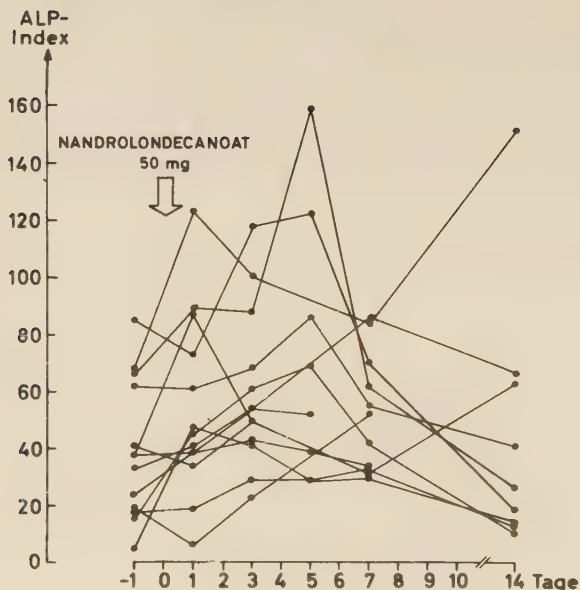


Abb. (9) Einfluß von Nandrolondecanoat auf die Aktivität der ALP bei Kranken. Die Bestimmung des ALP-Index erfolgte wie unter Methoden beschrieben jeweils zu dem auf der Abszisse angegebenen Zeitpunkt. Der Nullwert entspricht dem Zeitpunkt der Injektion des Steroids. Der Ausgangswert (-1) wurde aus dem Mittelwert von zwei ALP-Indexbestimmungen an zwei aufeinanderfolgenden Tagen vor Beginn der Therapie errechnet. Auf der Ordinate ist der Index der ALP aufgetragen (vgl.Tab.3).

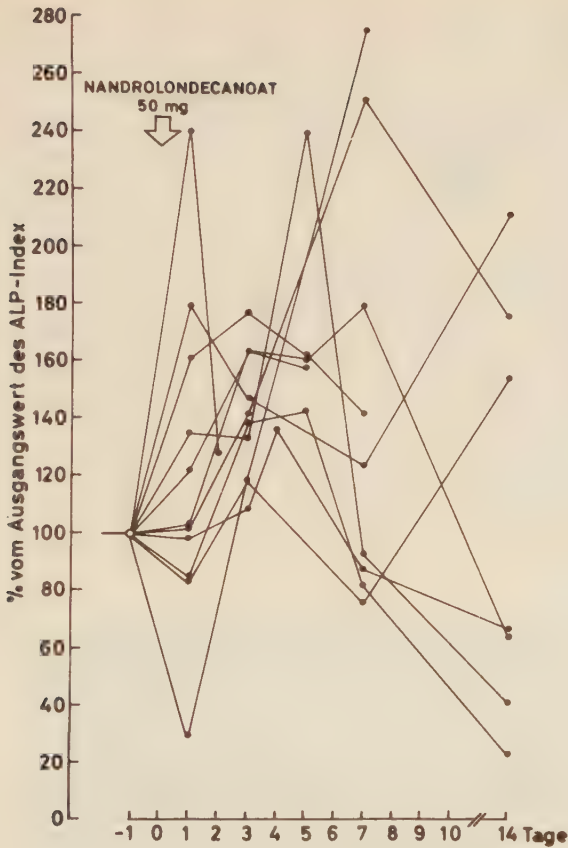


Abb. (10) Einfluß von Nandrolonedecanoat auf die Aktivität der ALP bei Kranken. Die Bestimmung des ALP-Index erfolgte wie unter Methoden beschrieben. Aufgetragen sind jeweils die ALP-Indices, ausgedrückt in % vom Ausgangswert. Der Ausgangswert wurde jeweils mit 100 % eingesetzt. Er wurde aus den ALP-Indices von zwei aufeinanderfolgenden Tagen ermittelt. Die Abszisse gibt den Zeitpunkt der Bestimmung des ALP-Index nach der Verabreichung von Nandrolonedecanoat an.

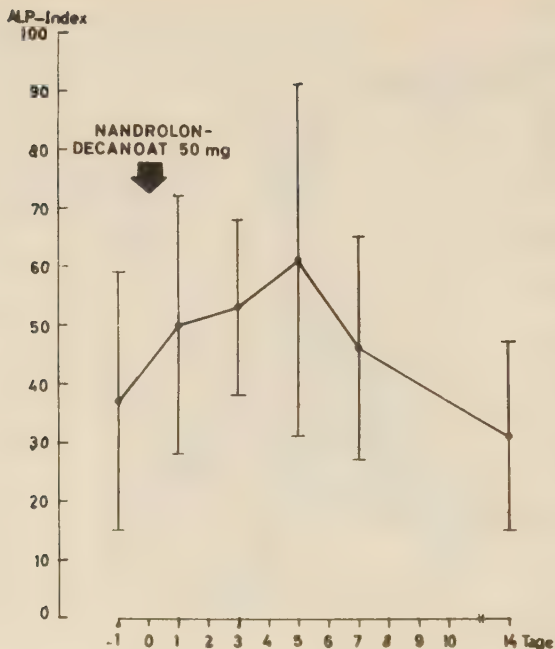


Abb. (11) Beeinflussung der Aktivität der ALP durch Nandrolondecanoat bei Kranken. Die Bestimmung des ALP-Index erfolgte wie unter Methoden beschrieben. Aufgetragen sind die Mittelwerte plus/minus der einfachen Standardabweichungen (•) der tatsächlich gefundenen ALP-Indices vom ersten, dritten, fünften, siebten und vierzehnten Tag nach 50 mg Nandrolondecanoat. Der Ausgangswert wurde aus den Bestimmungen der ALP-Indices von zwei aufeinanderfolgenden Tagen vor der Verabreichung des Steroids errechnet. Mit dem t-Test (14) wurde die Signifikanz der Differenzen der Mittelwerte der ALP-Indices des ersten ($p < 0,05$), des dritten ($p < 0,005$), des fünften ($p < 0,0025$) und des siebten Tages ($p < 0,1$) nach Nandrolondecanoat gegenüber dem Mittelwert der ALP-Indices vorher berechnet.

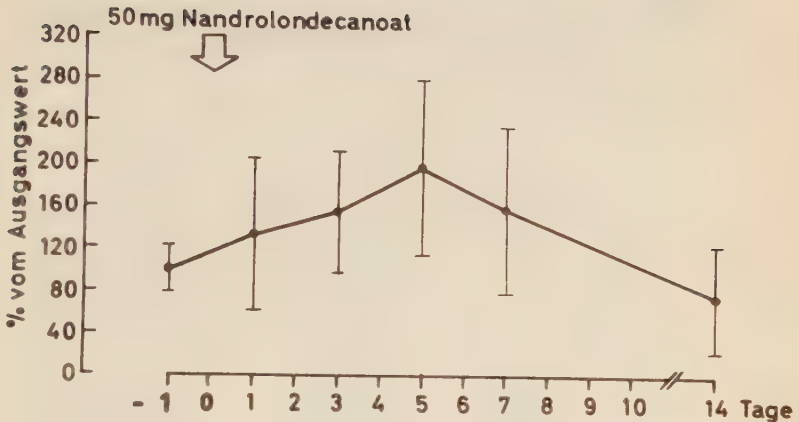


Abb.(12) Beeinflussung der Aktivität der ALP durch Nandrolondecanoat bei Kranken. Die Bestimmung des ALP-Index erfolgte wie unter Methoden beschrieben. Es sind die Mittelwerte plus/minus der einfachen Standardabweichungen (σ) der ALP-Indices, ausgedrückt in % vom Ausgangswert, angegeben. Der Ausgangswert wurde gleich 100% gesetzt und aus den ALP-Bestimmungen von zwei aufeinanderfolgenden Tagen vor der Behandlung mit Nandrolondecanoat errechnet. Die Abszisse gibt den Zeitpunkt der Untersuchung der ALP an. Die Signifikanz der Differenzen der Mittelwerte der ALP-Indices, ausgedrückt in % der Ausgangswerte, vom ersten ($p < 0,005$), dritten ($p < 0,0005$), fünften ($p < 0,00005$) und siebten Tag ($p < 0,0005$) nach Nandrolondecanoat gegenüber dem Ausgangswert wurde mit dem t-Test (14) berechnet.

Tab. (4) Der Einfluß von Nandrolondecanoat auf das Blutbild. Bei den in der Tabelle angeführten fünf männlichen Patienten wurde vor und während der ersten acht Tage nach 50 mg Nandrolondecanoat i. m. ein Blutbild nach konventioneller Methode hergestellt.

Name	Alter	Diagnose	B L U T B I L D	
			vorher	nachher
R.P.	21 J	Ulcus duodeni	Hb 15,7, Ery 5,05 Mill, Leuko 8200, Stab 3, Seg 73, Eo 1, Mono 7, Lymph 16	Hb 15,6, Ery 4,7 Mill, Leuko 5100, Stab 2, Seg 51 Eo 9, Baso 1, Mono 4, Lymph 33
I.E.	30 J	Lympho-granulomatose	Hb 12,6, Ery 4,5 Mill, Leuko 4000, Stab 1, Seg 75, Eo 1, Mast 1, Mono 4, Lymph 18	Hb 12,7 Ery 4,5 Mill, Leuko 2700, Stab 8, Seg 64, Eo 3, Mono 10, Lymph 15
B.G.	67 J	Ulc. duod. Herzinf.	Hb 13,0, Ery 4,3 Mill, Leuko 8200, Stab 3, Seg 66, Eo 2, Mono 4, Lymph 25	Hb 13,5, Ery 4,12 Mill, Leuko 8200, Seg 70, Eo 3, Mono 8, Lymph 19
H.A.	27 J	Lympho-granulomatose	Hb 11,8, Ery 4,14 Mill, Leuko 8300, Stab 2, Seg 85, Eo 4, Mono 2, Lymph 7	Hb 13,4, Ery 4,38 Mill, Leuko 3200, Stab 3, Seg 81, Eo 2, Mono 2, Lymph 12
H.K.	59 J	Encephalomyelitis disseminata	Hb 15,1, Ery 4,75 Mill, Leuko 8300, Stab 2, Seg 72, Eo 2, Mono 9, Lymph 15	Hb 16,0, Ery 5,32 Mill, Leuko 8000, Stab 1, Seg 65, Eo 2, Mono 5, Lymph 27

b) Gesunde Personen

Bei zehn gesunden, jungen Männern (Gruppe B) wurde an zwei aufeinanderfolgenden Tagen der ALP-Index, wie unter Methoden beschrieben, bestimmt und der Mittelwert als Ausgangswert eingesetzt. Die Ausgangswerte variierten hier zwischen 3 und 25. Dann erhielten diese Personen je einmal 50 mg Nandrolondecanoat i.m. Darauf wurde am ersten, zweiten, dritten, fünften und siebten Tag nach der Injektion des anabolen Steroids die Aktivität der ALP bestimmt. Das Verhalten der einzelnen ALP-Indices ist aus Tabelle (5) und Abbildung (13) zu ersehen. Außerdem gaben wir das Verhalten der Aktivität der ALP in % vom Ausgangswert wieder. Der Ausgangswert der ALP-Indices war jedesmal gleich 100 % gesetzt (Abb.14). Dann wurden die Mittelwerte plus/minus der einfachen Standardabweichungen sowohl der tatsächlich gefundenen ALP-Indices (Abb.15) als auch der ALP-Indices in % vom Ausgangswert (Abb.16) dargestellt.

Die statistische Auswertung ergab einen signifikanten Anstieg der Aktivität der ALP (ALP-Indices ausgedrückt in % vom Ausgangswert) vom zweiten bis zum siebten Tag nach 50 mg Nandrolondecanoat gegenüber dem Ausgangswert. Der Mittelwert der tatsächlich gefundenen ALP-Indices des fünften Tages nach Nandrolondecanoat ist von dem Mittelwert der Ausgangswerte signifikant unterschieden ($p < 0,0005$).

Die Untersuchungen über das Verhalten der ALP-Aktivität erfolgten bei dieser Gruppe von Personen im Gegensatz zu den anderen Untersuchungen synchron, d.h. zum selben Zeitpunkt.

Tab. (5) Der Einfluß von Nandrolondecanoat auf die Aktivität der ALP bei gesunden Personen. Bei den in der Tabelle angeführten zehn jungen, gesunden Männern wurde, wie unter Methoden beschrieben, an zwei aufeinanderfolgenden Tagen der ALP-Index bestimmt und der Mittelwert als Ausgangswert eingesetzt. Dann erhielten die Probanden je einmal 50 mg Nandrolondecanoat i.m. Der ALP-Index wurde darauf jeweils am ersten, zweiten, dritten, fünften und siebten Tag nach der Injektion bestimmt.

Name	Alter	ALP - I n d e x					
		vorher	1.	2.	3.	5.	7. Tag nachher
H.G.	24 J	3	1	4		5	3
W.A.	26 J	7	11	12	21	21	16
M.B.	34 J	3	5	2	4	6	5
S.P.	29 J	5	9	19	18	27	19
D.F.	26 J	25	12	12	11	24	22
D.M.	32 J	22	43	41		64	31
D.S.	24 J	11	9	11	11	13	8
V.D.	26 J	22	20	26	15	43	19
W.B.	30 J	8	8	9	17	24	14
L.R.	26 J	10	26	19	10	21	17

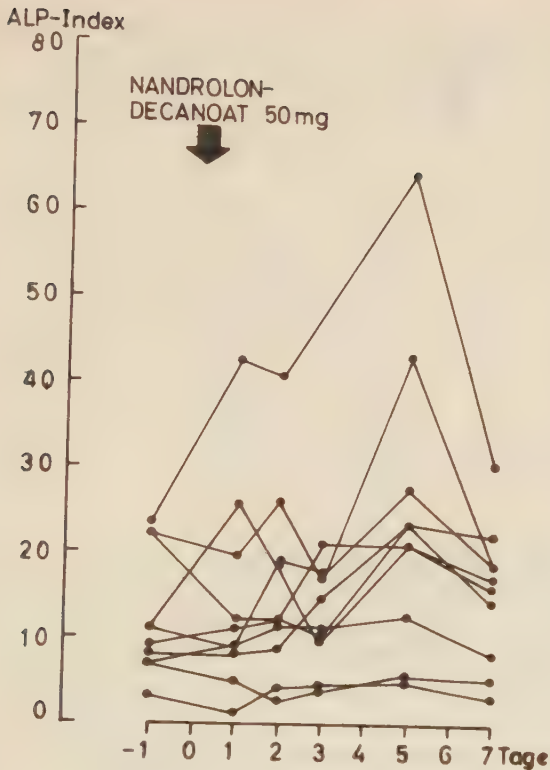


Abb.(13) Der Einfluß von Nandrolondecanoat auf die Aktivität der ALP bei gesunden Personen. Die Bestimmung des ALP-Index erfolgte, wie unter Methoden beschrieben, jeweils zu den auf der Abszisse angegebenen Zeitpunkten. Der Null-Wert auf der Abszisse entspricht der Zeit der Injektion von 50 mg Nandrolondecanoat. Auf der Ordinate ist der ALP-Index aufgetragen.

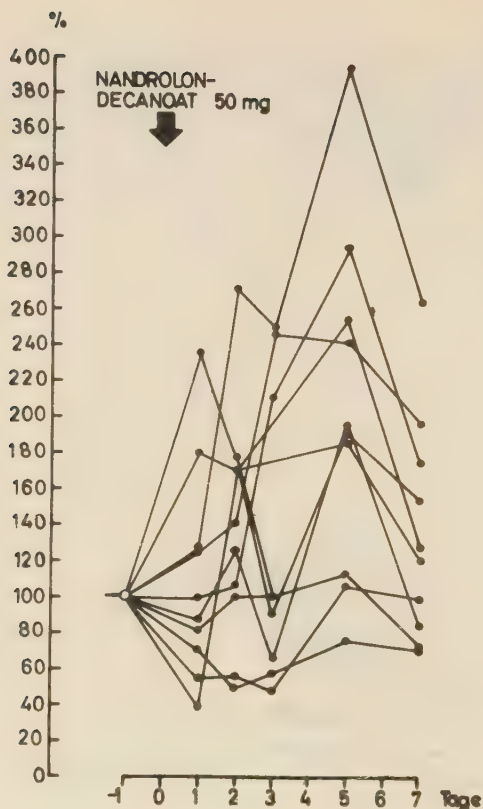


Abb.(14) Der Einfluß von Nandrolondecanoat auf die Aktivität der ALP bei gesunden Personen. Die Bestimmung des ALP-Index erfolgte wie unter Methoden beschrieben. Es sind zu den auf der Abszisse angegebenen Zeitpunkten jeweils die ALP-Indices in % vom Ausgangswert berechnet worden. Der Ausgangswert wurde jedesmal gleich 100 % gesetzt. Er wurde an zwei aufeinanderfolgenden Tagen vor Verabreichung von Nandrolondecanoat ermittelt. Der Nullpunkt der Abszisse entspricht der Zeit der Injektion des Steroids.

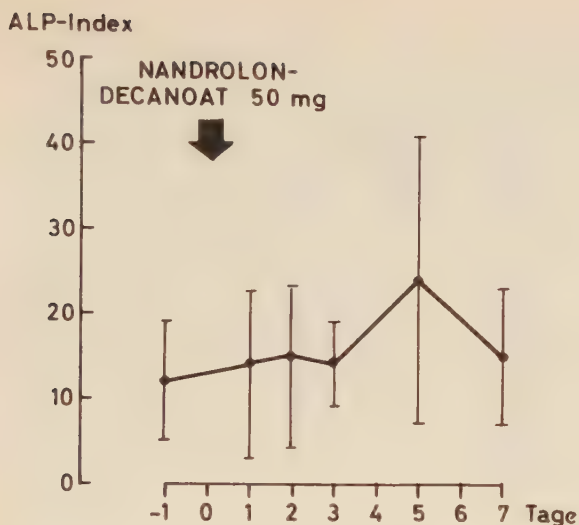


Abb.(15) Der Einfluß von Nandrolondecanoat auf die Aktivität der ALP bei gesunden Personen. Die Bestimmung des ALP-Index erfolgte wie unter Methoden beschrieben. Aufgetragen sind die Mittelwerte plus/minus der einfachen Standardabweichungen der tatsächlich gefundenen ALP-Indices. Die Abszisse gibt den jeweiligen Zeitpunkt der Untersuchung der ALP nach 50 mg Nandrolondecanoat wieder. Der Nullwert der Abszisse entspricht dem Zeitpunkt der Injektion des Steroids. Der Ausgangswert wurde aus den ALP-Bestimmungen von zwei aufeinanderfolgenden Tagen vorher bestimmt. Mit dem t-Test (14) wurde die Signifikanz der Differenzen der Mittelwerte der ALP-Indices vom ersten ($p < 0,25$), zweiten ($p < 0,1$), dritten ($p < 0,2$), fünften ($p < 0,0005$) und siebten Tag ($p < 0,1$) nach Nandrolondecanoat gegenüber dem Mittelwert der ALP-Indices vorher berechnet.

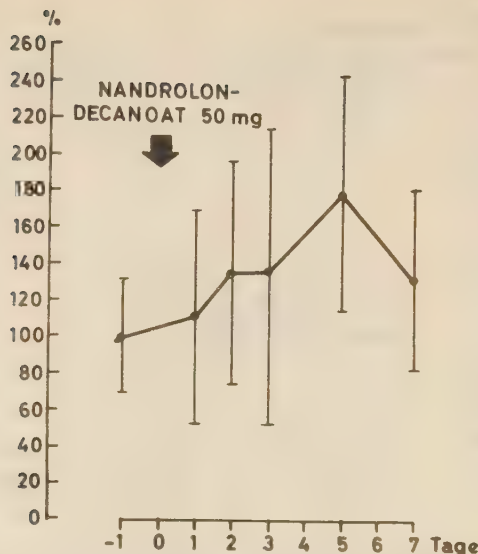


Abb.(16) Der Einfluß von Nandrolondecanoat auf die Aktivität der ALP bei gesunden Personen. Die Bestimmung des ALP-Index erfolgte wie unter Methoden beschrieben. Angegeben sind die Mittelwerte plus/minus der einfachen Standardabweichungen der ALP-Indices, ausgedrückt in % vom Ausgangswert. Der Ausgangswert wurde gleich 100 % gesetzt. Die Untersuchungen der Aktivität der ALP erfolgten zu den auf der Abszisse angegebenen Zeitpunkten. Der Nullwert entspricht dem Termin der Injektion von 50 mg Nandrolondecanoat. Die Signifikanz der Differenzen der Mittelwerte der ALP-Indices, ausgedrückt in % vom Ausgangswert, vom ersten ($p < 0,2$), zweiten ($p < 0,005$), dritten ($p < 0,025$), fünften ($p < 0,0005$) und siebten Tag ($p < 0,005$) nach Nandrolondecanoat gegenüber dem Mittelwert der Ausgangswerte wurde mit dem t-Test (14) berechnet.

c) Patienten mit einer chronisch myeloischen Leukämie

Bei acht Patienten mit einer chronisch myeloischen Leukämie wurde an zwei aufeinanderfolgenden Tagen, wie unter Methoden beschrieben, der ALP-Index bestimmt und der Mittelwert als Ausgangswert eingesetzt. Die ALP-Indices lagen zwischen Null und acht. Dann erhielten die Patienten je einmal 50 mg Nandrolondecanoat i.m. Es erfolgten Aktivitätsbestimmungen der ALP am ersten, dritten, fünften, siebten und vierzehnten Tage nach der Injektion des anabolen Steroids. Das Verhalten der Aktivität der ALP ist aus Tabelle (6) und Abbildung (17) zu ersehen. Wir berechneten ferner die Mittelwerte der tatsächlich gefundenen ALP-Indices plus/minus der einfachen Standardabweichung (Abb.18).

Bei dieser Gruppe von Patienten mit chronisch myeloischer Leukämie konnte keine signifikante Änderung der Aktivität der ALP unter der Wirkung von Nandrolondecanoat beobachtet werden. Nur bei einem Patienten stieg der ALP-Index am vierzehnten Tag nach der Injektion des anabolen Steroids gegenüber dem Ausgangswert von Null auf fünfzig. Bei diesem Patienten kam es aber gerade um diese Zeit zu einem Blastenschub, bei dem, wie aus der Literatur (15) bekannt ist, häufig Aktivitätssteigerungen gefunden werden.

Tab.(6) Der Einfluß von Nandrolondecanoat auf die Aktivität der ALP bei Patienten mit chronisch myeloi-scher Leukämie. Bei den in der Tabelle angeführten Patienten wurde an zwei aufeinanderfolgenden Tagen der ALP-Index, wie unter Methoden beschrieben, bestimmt. Die Patienten erhielten dann 50 mg Nandrolondecanoat i.m. Darauf wurden wieder die ALP-Indices am ersten, dritten, fünften, siebten und vierzehnten Tag nach der Injektion bestimmt.

Patient	Alter	Geschl.	vorher	ALP-I n d e x				14.Tag nach- her
				1.	3.	5.	7.	
A.K.	65 J	w	8	8	6	7	8	8
K.F.	31 J	w	14	9	5	5	10	10
G.M.	59 J	w	0	0	0	0	0	0
Sch.A.	57 J	m	3	4	3	9	1	8
T.B.	37 J	m	0	5	9	9	14	50
M.M.	76 J	w	3	6	4	1	1	1
K.V.	56 J	m	0	0	2	0	0	0
K.H.	31 J	m	3	6	9	8	18	10

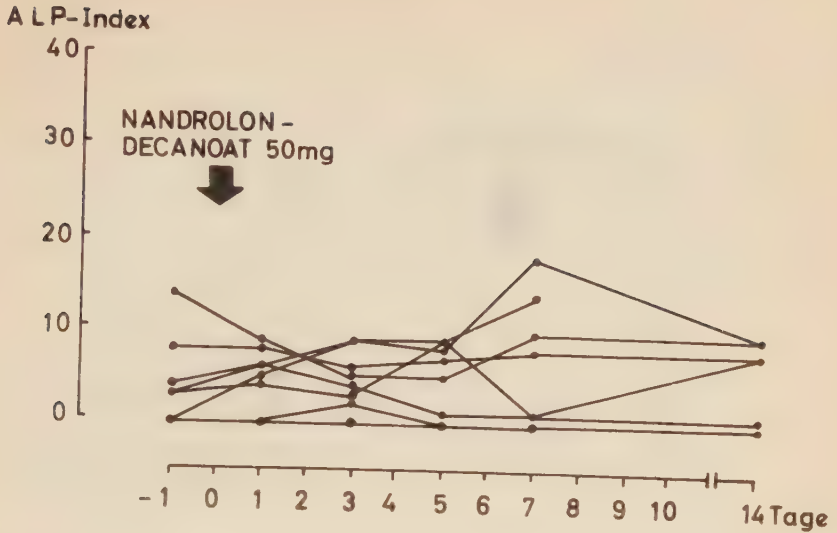


Abb.(17) Der Einfluß von Nandrolondecanoat auf die Aktivität der ALP bei Patienten mit chronisch myeloischer Leukämie. Die Bestimmung des ALP-Index erfolgte wie unter Methoden beschrieben. Die Abszisse zeigt den Zeitpunkt der Untersuchung der Aktivität der ALP vor und nach der Verabreichung von 50 mg Nandrolondecanoat. Der Nullwert entspricht dem Zeitpunkt der Injektion. Die Ordinate zeigt den ALP-Index.

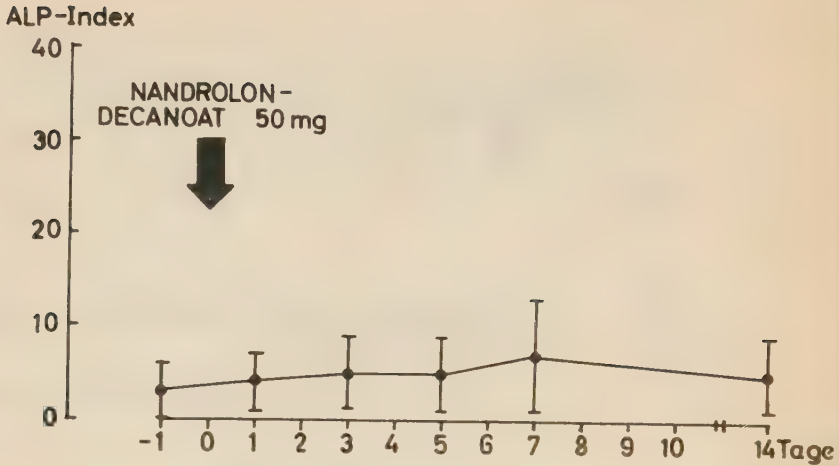


Abb. (18) Der Einfluß von Nandrolondecanoat auf die Aktivität der ALP bei Patienten mit einer chronisch myeloischen Leukämie. Die Bestimmung des ALP-Index erfolgte wie unter Methoden beschrieben. Angegeben ist der Mittelwert der ALP-Indices plus/minus der einfachen Standardabweichungen. Die Indexbestimmungen erfolgten zu den auf der Abszisse aufgetragenen Zeitpunkten vor und nach Injektion von 50 mg Nandrolondecanoat. Der Nullwert der Abszisse gibt den Zeitpunkt der Verabreichung des Steroids an. Eine signifikante Aktivitätssteigerung war nicht nachzuweisen.

D I S K U S S I O N

Die ALP ist, wie schon in der Einleitung angeführt, ein Enzym, dessen biologische Bedeutung noch unklar ist. Ebenso hat man über die genetische Regulation ihrer Bildung noch keine sichere Kenntnis. KING, GILLIS und BAIKIE (16), TEPLITZ und ROSEN (17), HAMMOUDA, QUAGLINO und HAYKO (18) halten es für möglich, daß das Chromosom 21 für die genetische Information zur Bildung der ALP von Bedeutung ist. Sie ziehen den Schluß aus der Tatsache der immer erhöht gefundenen ALP bei der mongoloiden Idiotie und der erniedrigten ALP bei der chronisch myeloischen Leukämie. Charakteristisch für die mongoloide Idiotie ist das Vorkommen von drei Chromosomen an Stelle des Chromosomenpaares 21. Bei der chronisch myeloischen Leukämie ist ein Teil eines Chromosoms des Paares 21 (Philadelphia-Chromosom) verkümmert. Deshalb glaubt TRUBOWITZ (19), daß das Gen für die ALP in diesem Chromosom plaziert sein könnte. KING und Mitarbeiter (16) fordern aber eine kompliziertere Definition, da unter anderen das daraus zu fordernde 3:2 Verhältnis der ALP-Aktivität zwischen Mongoloiden und Gesunden nicht nachweisbar war. So bedarf es wohl noch weiterer Untersuchungen, um diese Frage zu klären.

Wie unsere methodischen Vorversuche zeigten, wird die Enzymaktivität der ALP durch äußere Gegebenheiten beeinflußt. Wichtig ist die Konstanz der Substratkonzentration, die Inkubationstemperatur und das pH des Inkubationspuffers, was besonders die Substratspaltung beeinflußt. Das pH des Inkubationspuffers, Art und Konzentration des Diazoniumsalzes sind bedeutungsvoll für die Kupplungsgeschwindigkeit (11). Schon die Vorbereitung der hämatologischen Präparate ist wichtig

für ein konstantes Ergebnis. Offensichtlich ist für die Nachweisbarkeit des Enzyms von Bedeutung, daß das Präparat vollständig trocken ist. Durch das Austrocknen der Präparate, vor allem durch das ganz langsame Trocknen bei Zimmertemperatur, wird eine gute Stabilisierung des Enzyms erreicht und dieses am wenigsten geschädigt. Zugleich wird dadurch eine Art Vorfixierung erzielt (20).

Wir konnten an acht Beispielen zeigen, daß dieser Vorgang bis zu vierundzwanzig Stunden Zeit beanspruchen kann, da Inkubationen mit Ausstrichen, die vierundzwanzig Stunden luftgetrocknet waren, größere Aktivitäten zeigten als solche, nach einer und nach acht Stunden Lufttrocknen. Länger als höchstens fünf Tage sollen die Präparate jedoch nicht aufgehoben werden, da sich nach diesem Zeitpunkt ein Absinken der Aktivität zeigte. Wahrscheinlich ist das Enzym nicht so lange stabil. Die Phosphatase besitzt ein definiertes pH-Optimum, das plateauförmig zwischen pH 9,4 und 9,8 liegt. Schon bei einem pH-Wert von 9,0 ist die Aktivität geringer. Neben dem pH-Wert konnten wir den Einfluß der Inkubationstemperatur auf die Aktivität der ALP zeigen. Die Ergebnisse entsprachen nicht der RGT- (Reaktionsgeschwindigkeits-Temperatur) Regel der Thermodynamik, nach der die enzymaktivierte Reaktion um das zwei- bis dreifache pro 10°C Temperaturanstieg steigen sollte. Die Differenz der Aktivität des Enzyms bei Inkubationstemperaturen von 4°C zu 22°C und 37°C lag weit unter dem theoretisch zu erwartenden Wert. Ein Grund dafür könnte eine schnellere Inaktivierung des Enzyms bei höherer Temperatur sein. Niedrige Temperaturen bieten einen größeren Schutz für die Struktur des Enzyms (20). An drei weiteren Versuchen zeigten wir, daß bei einer Inkubationsdauer von mehr als einer Stunde keine höheren ALP-Indices gefunden werden. Vermutlich wurde das Enzymprotein unter Inkubationsbedingun-

gen denaturiert, so daß wir keine lineare Zunahme des umgesetzten Substrates bei längerer Inkubationsdauer fanden. Die Zeit von einer Stunde Inkubationsdauer ist also für eine Beurteilung der Aktivität der ALP gut geeignet. Für unsere Untersuchungen bestimmten wir jeweils den Index der ALP mit der "scoring technique" (9). Eine andere Möglichkeit besteht in der Angabe der phosphataseaktiven Zellen in % (13). Diese Größe ist zwar technisch einfacher zu bestimmen, aber besonders für höhere Aktivitätsbereiche gibt doch der Index der ALP den Anstieg besser wieder.

Der nach der von uns angewendeten Technik errechnete Normalbereich des Index der ALP lag zwischen 0 und 63. Der Mittelwert betrug 29,4, die einfache Standardabweichung 18,9. Die Extremwerte lagen zwischen 3 und 85. Wir sind daher der Meinung, daß sich nur erhöhte Aktivitäten für die klinische Diagnostik verwerten lassen, während der Begriff "erniedrigte" ALP-Aktivität bei uns entfiel. PERILLI und FINCK (21) geben einen Normalbereich zwischen 6 und 75 an, MERKER und HEILMEYER (9) von 10 bis 100. Die Daten über die Normalbereiche differieren auch in der übrigen Literatur leicht. Der Grund dürfte wohl unter anderem in der unterschiedlichen Beurteilung der einzelnen Aktivitätsstufen und in der unterschiedlichen Zahl der untersuchten Personen liegen. Dazu ist noch zu bemerken, daß unsere Berechnung des Normalbereiches nach der t-Verteilung (14) vielleicht nicht ganz korrekt erscheint, da die Anzahl der untersuchten Patienten nicht groß genug war um sicher zu entscheiden, ob eine Normalverteilung vorliegt. Es sei noch erwähnt, daß wir keinerlei Beziehung zwischen ALP-Aktivität und Zahl der Leukozyten fanden. Die normale Aktivität der ALP bezeichnet MERKER (13) als Antwort des granulozytären Fermentapparates auf ständige Reize und Kontakte der Zellen mit der Umgebung, z.B. mit Toxinen, Zerfalls-

produkten von Bakterien, ferner als Antwort auf Auseinandersetzungen mit hormonalen Systemen, Östrogenen, 17-Ketosteroiden und ACTH. Die ALP-Aktivität ist also eine leicht veränderliche und beeinflussbare Größe. LOHMANN und WEISSEL (22) diskutieren auch die Bedeutung von Plasmafaktoren für die ALP. Sie konnten nachweisen, daß bei Leukozyten, die in pathologischen Seren inkubiert worden waren, die Aktivität der ALP anstieg. Daß die Nebennierenrinde einen Einfluß auf die ALP ausübt, scheint gesichert. Man zog diesen Schluß aus Aktivitätssteigerungen, wie sie beobachtet wurden in der Schwangerschaft, bei vermehrter Ausschüttung von Nebennierenrindenhormonen, bei Stress-Situationen, auf Grund von Untersuchungen mit Cortison, Hydrocortison und ACTH und aus der Tatsache, daß beim M. ADDISON ACTH-Gabe ohne Wirkung auf die ALP blieb. In Versuchen von VALENTINE und Mitarbeiter (23), KEISER und ALSLEBEN (24), MERKER (13), PLENERT (25), BLUM (26) u.a. konnte eine Steigerung der Aktivität der ALP nach Gabe von ACTH, Cortison und Hydrocortison erzielt werden. Cortison und Hydrocortison bewirkten eine geringere Steigerung als ACTH. In vitro aber blieben nach KEISER und ALSLEBEN (24) Cortison und Hydrocortison ohne Wirkung auf die Aktivität der ALP. IMMEL und TILLING (2) konnten unter Corticoidtherapie keinen Anstieg der ALP sehen. In unseren Untersuchungen an vierzehn Patienten wiesen wir einen signifikanten Anstieg der ALP vierundzwanzig Stunden nach Beginn der Behandlung mit täglich 30 mg Prednisolon per os gegenüber dem Ausgangswert vor der Behandlung nach. Unter weiterer Behandlung mit Prednisolon sank der ALP-Index allerdings wieder ab, meist sogar bis unter den Ausgangswert. Von VALENTINE und Mitarbeitern (23) wurde eine Leukozytenfunktionsprüfung mit ACTH angegeben. Hochdosierte Corticoidtherapie zeigt den selben Effekt. Wenn es unter der Belastung mit ACTH oder Corticosteroiden, vor allem bei fallender oder niedriger ALP, zu einer Steigerung der

Aktivität kommt, nehmen die Autoren an, daß entweder normale funktionstüchtige Zellen gebildet werden, oder daß in den vorhandenen Zellen das Enzym aktiviert werden konnte. MERKER (13) beschrieb den Vorgang der Aktivitätssteigerung unter Stimulierung des fermentbildenden Apparates folgendermaßen: Zuerst kommt es nach zwei bis vier Stunden zu einem Aktivitätstiefpunkt, da besonders phosphatasepositive Zellen angegriffen werden. Dann folgt als Reizantwort nach vierundzwanzig Stunden eine relative und absolute Vermehrung der fermentaktiven Neutrophilen und nach einigen weiteren Tagen schließt sich wieder ein Abbau des Enzyms an bis zum Ausgangswert und darunter.

Zur Frage der hormonellen Beeinflußbarkeit der ALP-Aktivität wurden von uns Untersuchungen mit dem anabolen-androgenen Steroid Nandrolondecanoat durchgeführt. Es handelt sich dabei um ein halbsynthetisches Steroid, das wie alle 17β -Decanoate eine ausgesprochene Depotwirkung hat. Chemisch ist es ein 19-nor-Testosteron- 17β -decanoat. Gegenüber dem Testosteron fehlt die Methylgruppe am C - Atom 10. Dadurch wurde eine Verminderung der androgenen Wirkung um etwa ein Drittel von der des Testosterons erzielt und um etwa den gleichen Faktor die anabole Wirksamkeit erhöht (27). Unsere Untersuchungen mit diesem Steroid ergaben einen deutlichen Einfluß auf die Aktivität der ALP. Die Aktivitätssteigerung vom zweiten bis zum siebten Tag war nach der Injektion des Steroids signifikant. Den beobachteten Effekt auf eine Wirkung des anabol-androgenen Steroids auf die Nebennierenrinde zu beziehen, erscheint uns jedoch nicht möglich, obwohl bekannt ist, daß Androgene die Corticosteroidbildung in der Nebennierenrinde stimulieren (33). Es erzeugten nämlich relativ hohe Prednisonlindosen eine geringere Aktivitätssteigerung als das Nandrolondecanoat. Ob die Steigerung der ALP-Aktivität nur auf der anabolen Wirkung

des Nandrolondecanoats beruht, etwa durch Eingriff in den Eiweißhaushalt, Phosphorylierungsvorgänge, ATP-Synthese usw. zustandekommt, muß dahingestellt bleiben. Diese Frage und die Frage nach der Bedeutung der chemischen Struktur des anabol-androgenen Steroids kann nur durch Versuche mit Strukturanalogen mit verschiedener anaboler-androgener Potenz geklärt werden.

Keinerlei Einfluß des Nandrolondecanoats auf die Aktivität der ALP konnten wir bei Patienten mit chronisch myeloischer Leukämie beobachten. Der Mittelwert der ALP-Indices war 3,5 bei diesen Patienten. KEISER und ALSLEBEN (24) führten Untersuchungen mit Corticosteroiden bei Patienten mit dieser Erkrankung durch. Sie konnten auch keine Aktivitätssteigerung nachweisen. Über dieselben Beobachtungen berichten auch TANAKA und Mitarbeiter (28) und LAMBERG (29). FISCHER, LOHRBACHER und SCHUHMACHER (30) sowie REMY und MENDE (31) sehen in der mangelnden Induzierbarkeit der ALP ein Zeichen von biochemischer und funktioneller Minderheit der neutrophilen Granulozyten bei der chronisch myeloischen Leukämie, die auch in der herabgesetzten Phagozytosefähigkeit zum Ausdruck kommt. Es scheint also, daß die gesamte Granulopoese gestört ist, so daß überhaupt keine vollwertigen Endprodukte gebildet werden und sie sich auch durch die gesamten therapeutischen Maßnahmen nicht in normale Bahnen lenken läßt. Dagegen konnten XEFTERIS und MITUS (32) eine Aktivierung der ALP mit Busulfan erzielen. Sie hielten es für möglich, daß als Folge der cytostatischen Therapie neue, "nicht leukämische" Zellen, gebildet worden waren.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Die ALP ist ein Enzym, dessen Aktivität leicht zu beeinflussen ist. Die methodischen Gegebenheiten sollen beim zytochemischen Nachweis deshalb streng konstant gehalten werden. Die Bedeutung des Alters der Blutaussstriche, des pH der Inkubationslösung, der Inkubationstemperatur und der Inkubationsdauer werden beschrieben. Die Blutaussstriche sollen mindestens acht bis vierundzwanzig Stunden alt sein. Die Enzymaktivität läßt sich bei einem InkubationspH von 9,4 bis 9,8, einer Inkubationstemperatur von 4°C und einer Inkubationsdauer von einer Stunde optimal nachweisen. Der von uns errechnete Normalbereich der ALP liegt zwischen einem Index von 0 und 63.
2. Corticosteroide steigern die ALP-Aktivität. Unsere Untersuchungen mit Prednisolon zeigen eine signifikante Aktivitätssteigerung vierundzwanzig Stunden nach Beginn der Therapie mit 30 mg Prednisolon pro Tag.
3. Anabol-androgene Steroide bewirken eine Steigerung der Aktivität der ALP. Bei 23 Personen konnten wir eine Erhöhung des ALP-Index durch Nandrolondecanoat beobachten, die vom zweiten bis zum siebten Tag nach der Injektion von 50 mg Nandrolondecanoat anhielt.
4. Anabol-androgene Steroide bleiben ohne Wirkung auf die Aktivität der ALP bei Patienten mit einer chronisch myeloischen Leukämie. In acht untersuchten Fällen konnten wir mit einer Injektion von 50 mg Nandrolondecanoat keine Steigerung der ALP-Aktivität erzielen.

LEBENS LAUF

Ich wurde am 28. 6. 1939 als Tochter des damaligen Feldwebels Alois Sicklinger und dessen Ehegattin Elisabeth, geb. Glück in Prachatitz geboren. 1941 fiel mein Vater im Krieg. 1945 trat ich in Passau in die Volksschule ein, von der ich 1950 in das Realgymnasium in Passau-Niedernburg überwechselte. Dieses besuchte ich bis zum Abitur im Sommer 1960. Ab SS 1961 studierte ich an der Universität in München Medizin. Dort legte ich im Winter 1962 das Vorphysikum und im Sommer 1963 das Physikum ab. An der selben Universität bestand ich im Herbst 1966 das medizinische Staatsexamen.

